

(19) 日本国特許庁 (J P)

(12) 公表特許公報 (A)

(11) 特許出願公表番号
特表2003-504159
(P2003-504159A)

(43) 公表日 平成15年2月4日 (2003. 2. 4)

(51) Int.Cl. ⁷	識別記号	F I	テーマコード* (参考)
A 6 1 L 24/00		A 6 1 B 17/11	4 C 0 6 0
A 6 1 B 17/11		A 6 1 K 45/00	4 C 0 8 1
A 6 1 K 38/00		A 6 1 L 31/00	T 4 C 0 8 4
45/00		A 6 1 P 17/02	
A 6 1 L 26/00		19/00	

審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 53 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号	特願2001-510530 (P2001-510530)	(71) 出願人	イムデ ビオマテリオール
(86) (22) 出願日	平成12年7月20日 (2000. 7. 20)		フランス国, エフ-01600 トルプー, ア
(85) 翻訳文提出日	平成13年3月21日 (2001. 3. 21)		ブニュ ドゥ フォールマン, 116
(86) 国際出願番号	P C T / F R 0 0 / 0 2 0 8 8	(72) 発明者	タヨ, ジャンールイ
(87) 国際公開番号	W O 0 1 / 0 0 5 4 4 3		フランス国, エフ-69890 ラ トゥール
(87) 国際公開日	平成13年1月25日 (2001. 1. 25)		ドゥ サルバニー, リュ デ グレフィ
(31) 優先権主張番号	9 9 / 0 9 4 6 7		エレ, 1
(32) 優先日	平成11年7月21日 (1999. 7. 21)	(72) 発明者	バイヨン, イブ
(33) 優先権主張国	フランス (F R)		フランス国, エフ-69100 ビーユルバン
(31) 優先権主張番号	9 9 / 0 9 4 6 1		ヌ, リュ アルクサンドル プータン, 81
(32) 優先日	平成11年7月21日 (1999. 7. 21)	(74) 代理人	弁理士 石田 敬 (外4名)
(33) 優先権主張国	フランス (F R)		

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 外科的及び／又は治療的使用のための接着性タンパク質フォーム、並びにその生産のための方法及びキット

(57) 【要約】

本発明は、外科的及び／又は治療的使用のため、特に組織創傷を保護／治癒するため及び生物組織と一緒に又は移植した生物材料に結合させるための、生体適合性で生物学的に吸収可能で非毒性である流体接着性タンパク質フォームに関する。それは、ガス又は生体適合性で非毒性のガスの混合物を含む、生体適合性で生物学的に吸収可能な非毒性の流体接着性タンパク質マトリックスを含む。本発明は、このようなフォームを調製するための方法及びキットにも関する。

【特許請求の範囲】

【請求項1】 外科的及び／又は治療的使用のため、特に組織創傷を保護／癒痕形成するため及び生体組織を互いに又は移植した生物材料に結合させるための、生体再吸収性で非毒性である生体適合性流体接着性タンパク質フォームであって、生体適合性非毒性ガス又はガスの混合物を含む、生体適合性で非毒性である生体適合性流体接着性タンパク質マトリックスを含むことを特徴とするフォーム。

【請求項2】 前記接着性マトリックスが、非毒性、生体適合性及び生分解性でありそして接着特性を有する少くとも部分的に重合／架橋されたタンパク質化合物からなり又はそれを含み、ここで前記タンパク質化合物は任意に化学的に修飾されていることを特徴とする請求項1に記載の接着性フォーム。

【請求項3】 前記タンパク質が、コラーゲン、ゼラチン、アルブミン、エラスチン及びフィブリーゲンから、好ましくはコラーゲン及びアルブミンから選択されるタンパク質又はタンパク質の混合物からなり、又はそれを含むことを特徴とする請求項1又は2に記載の接着性フォーム。

【請求項4】 前記化合物がコラーゲンからなり、又はそれを含むことを特徴とする請求項1～3のいずれか一に記載の接着性フォーム。

【請求項5】 前記タンパク質化合物が、ネイティブコラーゲン、化学的に修飾された、特にメチル化により、スクシニル化によりもしくは特に過ヨウ素酸もしくはその塩で酸化的開裂により修飾されたネイティブコラーゲン、テロペプチドのないネイティブコラーゲン、又は100kDaに近い分子量の α 鎖から主になるそのヘリックス構造を少くとも部分的に失っている非加水分解化コラーゲン（加熱コラーゲン）からなり、又はそれを含むことを特徴とする請求項4に記載の接着性フォーム。

【請求項6】 前記タンパク質化合物が、加熱コラーゲンからなり、又はそれを含むことを特徴とする請求項4に記載の接着性フォーム。

【請求項7】 前記タンパク質化合物が、1000を超える分子量の反応性ポリマー、特にアミン又はスルフヒドリル機能に関して、好ましくは前記タンパク質化合物と反応することができる高分子ポリアルデヒド類及び親水性ポリマー

類から選択される反応性ポリマーで架橋されることを特徴とする請求項1～6のいずれか一に記載の接着性フォーム。

【請求項8】 前記高分子ポリアルデヒドが、酸化ポリサッカライド又はムコポリサッカライドから、好ましくはデンプン、デキストラン、アガロース、セルロース、キチン、キトサン、アルギン酸、グリコサミノグリカン類、ヒアルロン酸及びコンドロイチンスルフェート、並びにその誘導体又は混合物から、より好ましくはデンプン、デキストラン及びヒアルロン酸から選択されることを特徴とする請求項7に記載の接着性フォーム。

【請求項9】 前記高分子ポリアルデヒドが酸化デンプンを含むことを特徴とする請求項8に記載の接着性フォーム。

【請求項10】 前記親水性ポリマーが、ポリ（エチレン）グリコール（PEG）、ポリ（オキシエチレン）、ポリ（メチレングリコール）、ポリ（トリメチレングリコール）及びポリ（ビニルピロリドン）、最も好ましくはPEGの誘導体から選択されることを特徴とする請求項7に記載の接着性フォーム。

【請求項11】 前記接着性マトリックスが、酸化デンプンで架橋された加熱化コラーゲンからなり又はそれを含むことを特徴とする請求項1～9のいずれか一に記載の接着性フォーム。

【請求項12】 前記接着性マトリックスが、酸化デンプンで架橋されたアルブミンからなり、又はそれを含むことを特徴とする請求項1～3及び7～9のいずれか一に記載の接着性フォーム。

【請求項13】 前記接着性マトリックスが、反応性ポリマーで架橋されたアルブミンからなり、又はそれを含むことを特徴とする請求項1～3，7及び12のいずれか一に記載の接着性フォーム。

【請求項14】 前記接着性マトリックスが、フィブリン接着剤からなり、又はそれを含むことを特徴とする請求項1～3のいずれか一に記載の接着性フォーム。

【請求項15】 前記ガスが、空気、窒素、酸素及び二酸化炭素又はこれらのガスの1又は複数の混合物から、好ましくは空気、二酸化炭素及び窒素、最も好ましくは空気から選択されることを特徴とする請求項1～14のいずれか一に

記載の接着性フォーム。

【請求項16】 前記ガスの容量が前記フォームの全容量の25～90%、好ましくは40～75%であることを特徴とする請求項1～15のいずれかに記載の接着性フォーム。

【請求項17】 前記フォームが1又は複数の生物学的に活性な物質を含むことを特徴とする請求項1～16のいずれかに記載の接着性フォーム。

【請求項18】 コラーゲンフィルムにかたく結合していることを特徴とする請求項1～17のいずれかに記載の接着性フォーム。

【請求項19】 外科的及び／又は治療的使用のため、特に組織創傷を保護／癒痕形成するため及び生体組織を互いに又は移植した生体材料に結合させるための、生体再吸収性で非毒性である生体適合性流体接着性タンパク質フォームを生産するための方法であって、均一に、重合／架橋することができ潜在的に接着性であるタンパク質化合物を、重合／架橋剤と、即時に混合して、生体再吸収性で非毒性である流体生体適合性接着タンパク質マトリックス材料及び生体適合性で非毒性のガス、又は前記流体接着性タンパク質マトリックス材料ともしくは水性媒体中に可溶化したこのような材料の基本的構成成分とガスの混合物を形成することを含むことを特徴とする方法。

【請求項20】 固体形態、特に繊維又は乾燥粉末の形態の前記タンパク質化合物を、加熱手段により緩衝水溶液と即時に混合すること、及び重合／架橋剤を前記混合物に供することを特徴とする請求項19に記載の方法。

【請求項21】 前記タンパク質化合物が請求項3～6のいずれかに記載の化合物であることを特徴とする請求項19及び20のいずれかに記載の方法。

【請求項22】 前記タンパク質化合物が1～5重量%、好ましくは2.5～4重量%の濃度の水溶液の形態のネイティブコラーゲンからなり又はそれを含むことを特徴とする請求項19に記載の方法。

【請求項23】 前記タンパク質化合物が、4～20重量%、好ましくは5～18重量%の濃度の水性媒体に溶解された加熱コラーゲンからなり又はそれを含むことを特徴とする請求項19に記載の方法。

【請求項24】 前記タンパク質化合物が、20～50%、好ましくは40

～50%の濃度の水性媒体に可溶化されたアルブミンからなり又はそれを含むことを特徴とする請求項19及び21のいずれかに記載の方法。

【請求項25】 前記重合／架橋剤が請求項7～10のいずれか一に記載の反応性ポリマーであることを特徴とする請求項19～24のいずれか一に記載の方法。

【請求項26】 前記重合／架橋剤が、0.5～10重量%、好ましくは1～3重量%の濃度の水性媒体に可溶化した高分子ポリアルデヒドであることを特徴とする請求項25に記載の方法。

【請求項27】 前記タンパク質化合物が、ネイティブ又は加熱コラーゲンからなり又はそれを含み、そして前記重合／架橋剤が酸化デンプンであることを特徴とする請求項19～23及び25～26のいずれか一に記載の方法。

【請求項28】 加熱コラーゲンに対する高分子ポリアルデヒドの割合が、1/10～1/160、好ましくは1/15～1/50であり、ここで混合温度が35℃～41℃であることを特徴とする請求項19～21、23及び26、27のいずれか一に記載の方法。

【請求項29】 ネイティブコラーゲンに対する高分子ポリアルデヒドの割合が1/10～1/50、好ましくは1/10～1/30であり、混合温度が18℃～37℃であることを特徴とする請求項19～22及び25～27のいずれか一に記載の方法。

【請求項30】 前記タンパク質化合物が、あらかじめ、化学的又は酸化的開裂により、特に過ヨウ素酸又はその塩での処理により改変されていること、及び重合剤がほぼ中性のpHで前記タンパク質化合物の重合／架橋を許容するようにわずかにアルカリ性pHの緩衝液からなることを特徴とする請求項19～21のいずれか一に記載の方法。

【請求項31】 水溶液中でフィブリノーゲンをトロンビンと混合することを含むことを特徴とする請求項19～21のいずれか一に記載の方法。

【請求項32】 前記ガスが、空気、窒素、酸素及び二酸化炭素又はそれらガスの1又は複数の混合物から、好ましくは、空気、二酸化炭素及び窒素から、特に好ましくは空気から選択されることを特徴とする請求項19～31のいずれ

か一に記載の方法。

【請求項33】 前記ガスを、前記接着性タンパク質マトリックスのための1又は複数の構成物と組み合わせることを特徴とする請求項19～32のいずれか一に記載の方法。

【請求項34】 前記ガスを、生体適合性で非毒性のビヒクル、好ましくは請求項21に記載のタンパク質化合物から形成されたものと組み合わせることを特徴とする請求項19～33のいずれか一に記載の方法。

【請求項35】 前記ガスを、粉末又は凍結乾燥形態の重合／架橋剤及び／又はビヒクルにより供することを特徴とする請求項19～33のいずれか一に記載の方法。

【請求項36】 前記ガスを、粉末又は凍結乾燥形態の前記タンパク質化合物により供することを特徴とする請求項19～33のいずれか一に記載の方法。

【請求項37】 導入されるガスの容量が前記接着性フォームの全容量の25～90%、好ましくは40～75%であることを特徴とする請求項19～36のいずれか一に記載の方法。

【請求項38】 1又は複数の生物学的に活性な物質を前記接着性タンパク質マトリックス材料に導入することを含むことを特徴とする請求項19～37のいずれか一に記載の方法。

【請求項39】 1又は複数の前記生物学的に活性な物質を、任意にガス又はガスの混合物のためのビヒクルである生体適合性で非毒性のビヒクルと組み合わせることを特徴とする請求項38に記載の方法。

【請求項40】 前記接着性流体タンパク質フォームが、前記混合物を、2つのシリンジの間の後方及び前方に移すことにより生産されることを特徴とする請求項19～39のいずれか一に記載の方法。

【請求項41】 前記ガスを、前記接着性マトリックス材料（形成過程におけるマトリックス）に導入することを特徴とする請求項19～40のいずれか一に記載の方法。

【請求項42】 前記ガスを、前記接着性マトリックスの形成のために構成物を混合する時に導入することを特徴とする請求項19～40のいずれか一に記

載の方法。

【請求項43】 前記ガスを、18℃～41℃の温度を供するように前記接着性マトリックス材料と混合することを特徴とする請求項19～42のいずれか一に記載の方法。

【請求項44】 外科的及び／又は治療的使用のため、特に組織創傷を保護／癒痕形成するため及び生体組織を互いに又は移植した生体材料に結合させるための、生体再吸収性で非毒性である生体適合性流体接着性タンパク質フォームを調製するためのキットであって、水性溶媒中に可溶化された、重合／架橋することができる潜在的に接着性のタンパク質化合物と、生体再吸収性で非毒性である、生体適合性流体接着性タンパク質マトリックスを形成するための、重合／架橋剤と、生体適合性で非毒性のガス又はガスの混合物と、構成成分、接着性マトリックスを形成するための水溶液中のタンパク質化合物及び重合／架橋剤、及び前記ガス又はガスの混合物を即時的に混合するための手段と、を含むことを特徴とするキット。

【請求項45】 粉状の脱水されそして任意に滅菌された形態の潜在的に接着性のタンパク質化合物を含む第1の容器と、任意に滅菌緩衝された水溶液を含む第2の容器と、可溶化されたタンパク質化合物に重合／架橋剤を供給するための手段と、前記第1及び第2の容器の成分を混合するための手段と、前記混合物において気体を用いてフォームを作り出すための手段と、を含むことを特徴とする請求項44に記載のキット。

【請求項46】 前記タンパク質化合物、重合／架橋剤、及び前記ガスが請求項21～39のいずれか一に記載のものであることを特徴とする請求項44及び45のいずれかに記載のキット。

【請求項47】 シリンジの一方が水溶液中に前記タンパク質化合物を含み、そして他方が前記重合／架橋剤を含む、混合手段を備えた2つのシリンジの形態であることを特徴とする請求項44に記載のキット。

【請求項48】 前記ガスが、前記タンパク質化合物と、及び／又は前記重合／架橋剤と組合わせられることを特徴とする請求項44～47のいずれか一に記載のキット。

【請求項49】 前記混合手段が、粉状タンパク質化合物を含むシリンジ内に含まれるガスを用いて、フォームの形成を確実にするように、一方のシリンジから他方のシリンジに複数回、通過させることを可能にすることを特徴とする請求項45に記載のキット。

【請求項50】 前記ガスが、生体適合性で非毒性のビヒクルと組合わされ、好ましくは請求項21に記載のタンパク質化合物を形成することを特徴とする請求項44～48のいずれか一に記載のキット。

【請求項51】 ビヒクルと任意に組合わされたガスを含む第3のシリンジを含むことを特徴とする請求項44～48のいずれか一に記載のキット。

【請求項52】 前記ビヒクルが、1又は複数の生物学的に活性な物質も含むことを特徴とする請求項51に記載のキット。

【請求項53】 前記重合／架橋剤及び／又は前記ビヒクルが凍結乾燥された形態であることを特徴とする請求項44～52のいずれか一に記載のキット。

【請求項54】 血管もしくは組織創傷の出血を防ぎもしくは停止させ、生きている組織を含む生体組織を互いにもしくは移植した生体材料に結合させ、外科的もしくは慢性の創傷を瘢痕形成させ、縫合を保護しもしくは密閉し、術後癒着の形成を防ぎ、又は生物学的に活性な物質を、特に局所的適用のための薬剤及び充填組織の腔（骨、軟骨、皮膚障害等）と共に送り出すための、請求項1～18のいずれか一に記載の流体接着性タンパク質フォームの使用。

【発明の詳細な説明】

【0001】

本発明は、外科的及び／又は治療的使用を意図した、生体分解性で非毒性である生物接着剤の分野にある。

【0002】

より詳しくは、本発明は、外科的及び／又は治療的使用のための、生体再吸収性で非毒性である生体適合性流体接着タンパク質フォームに関する。

本発明は、所定の部位において放出することができる生体活性物質を含む上述のようなフォームにも関する。

更に、本発明は、上述のような接着性フォームを生産するための方法、及びその調製のためのキットに関する。

【0003】

本発明は、外科的及び／又は治療的目的のため、特に創傷を保護し、生体組織を互いに又は移植された生体材料に結合させるための接着性フォームの使用にも関する。

ステーブル又は縫合を用いることなく組織に接着することができ、又はそれらを互いに接着することができる生物接着剤が知られている。これらの接着剤は、一般に創傷の癒痕形成の後に、生体分解、再吸収により、又はかさぶたの形態での単純な脱離により除去される。

【0004】

組織接着剤の形成のために種々の技術が開発されている。それらのいくつかは合成源、例えばシアノアクリレート（2-ブチルシアノアクリレート、2-オクチルシアノアクリレート）に又は合成ポリマーに基づく接着剤であり、他のものは、生物材料、例えばコラーゲン又はフィブリンを含む。

一般に、血管又は肺のタイトな密閉のため、及び皮膚の切れ目の傷を“接着する（gluing）”するために合成接着剤が用いられている。更に、コラーゲン及びフィブリンのような接着性の生物学的誘導体は止血特性を有し、出血を抑制することによっても機能する。

【0005】

シアノアクリレート接着剤は、現在開発されている接着剤は有害性が少ないが、分解した時に毒性産物を形成する。

それらは、適用の部位での重合の後に碎けやすい産物を導く。それらは、7～10日間、適所に残り、癒痕形成の後、単純な脱離によって除去される。それらの重合時間は比較的変わらず、1分未満であり、これらの接着剤の柔軟な使用を許容しない。それらは、容易に行うことができ、結果として、組織を要求される部位近くに接着する。

【 0 0 0 6 】

F O C A L (U S 5, 8 4 4, 0 1 6) は、ポリエチレングリコール (P E G) から作られたヒドロゲルの光化学的重合に基づく合成接着剤を記載する。それらの使用の方法は実用的でない。特に、それらは、生物学的に活性な物質をおそらく含む、光化学的イニシエーター (エオシン Y) を含む溶液の及びモノマー (P E G 及びアクリレートの誘導体) 溶液の、作用部位への数ステップでの適用、並びに次の、40～60秒後に固体の透明な接着性ゲルが得られるまでの光の照射に関する。従って、この型の接着剤は、それらの流動性により、標的部位に隣接した部位に容易に広げることができるいくつかの溶液の適用を要求する。

【 0 0 0 7 】

これらの接着剤は、それらの微小粒子ネットワーク内に含まれる生物学的に活性な物質 (血管内皮成長因子 (V E G F) 、内皮細胞成長因子 (E C G F) 、塩基性繊維芽細胞成長因子 (b F G F) 、骨形態発生タンパク質 (B M P) 等) のターゲット化デリバリーについても記載されている (F O C A L U S 5, 8 7 9, 7 1 3) 。

【 0 0 0 8 】

B A R D (W O 9 7 / 4 2 9 8 6) は、紫外線により重合が誘導される上述の F O C A L のものに似た接着剤を記載している。

COHESION THCHNOLOGIES (US 5, 874, 500 ; US 5, 744, 545 ; US 5, 550, 187) は、種々の時間で、適用の標的部位への単純な適用の後に重合する活性化 P E G (例えばスクシニミジル及びマレイミジル基を含む P E G) に基づく液体接着剤を記載する。これらの接着剤は潜在的に毒性であり、介入の部位への正確な適用を

防ぐ流体であるという欠点を有する。

【 0 0 0 9 】

C R Y O L I F E は、ウシアルブミン及びグルタルアルデヒドの混合物に基づき、別の型の接着剤を開発している。この架橋剤の周知の毒性効果及びウシアルブミンの抗原性の他に、その接着剤は、流動性の上述の問題も有する。

フィブリン接着剤、濃フィブリンノーゲン及びトロロンビンの混合物は、フィブリン・マトリックスを形成し、それは、内在性フィブリン分解システムによって分解される。重合の前、それらは極めて流動性で、たとえそれらの反応時間をトロロンビンの全量を変えることにより調節することができたとしても、容易に行うことができる。それらは、活性な生物物質を放出することができる（例えば、Zarg e et al., J. Surg. Res., 1997, 67, 4-8; Greisler et al., Surgery, 1992, 112, 244-255; Gray et al., Surg. Forum, 1993, 44, 394-396; Clinica, 1999, 848, 18）。

【 0 0 1 0 】

フィブリン接着剤をリボソームと組み合わせる装置も記載されている（U S 5, 6 5 1, 9 8 2）。

フィブリン接着剤は、スプレーを用いて適用の部位に気化させることができ、泡状凝塊フィルムを形成することができる（U S 5, 6 0 7, 6 9 4 ; W O 9 7 / 3 3 6 4 6）。

【 0 0 1 1 】

合成ポリマータンパク質を架橋剤と組み合わせる複合装置が生物学的接着剤として供されている（U S 5, 8 1 7, 3 0 3）。

最後に、コラーゲン又はゼラチンに基づくいくつかの接着剤が文献に記載されている。極めて早期には、ゼラチンがレゾルシノールと及びホルムアルデヒドと又はグルタルアルデヒドと組合わされて、止血特性も有する接着剤が作り出された（Tatooles et al., Surgery, 1966, 60, 857-861; Braunwald et al., Surgery, 1966, 59, 1024-1030; Guilmet et al., J. Thorac. Cardiovasc. Surg., 1979, 77, 516-521）。この型の接着剤では、しかしながら、ホルムアルデヒド又はグルタルアルデヒドが毒性反応を引き起こす危険があり、組織壊死又は激しい

反応を導き、癒痕形成が少なく、又はそれはゆっくりである。

【 0 0 1 2 】

特定の製剤において、コラーゲンはトロンビンと密接に関連している (C o h e s i o n t e c h n o l , からの C o s t a s i s 及び F u s i o n からの F l o - S e a l) 。

外科での適用のために、それは、変換されたコラーゲンがイニシエーターの存在又は欠如下で、適用の部位で重合することができるように、アシル化又はスルホン化剤で化学的に修飾することもできる (U S 5 , 8 7 4 , 5 3 7 ; W O 9 7 / 4 2 9 8 6) 。

【 0 0 1 3 】

加熱コラーゲン及び架橋剤として生分解性高分子ポリアルデヒドを用いて得られた接着剤も記載されている (F R 2 , 7 5 9 , 2 6 7 ; F R 2 , 7 5 4 , 2 6 8) 。

文献に記載される外科的及び／又は治療的使用のための接着剤は本質的に液体形態である。

【 0 0 1 4 】

フィブリン接着剤の要素 (トロンビン及びフィブリノーゲン) を含む非注入性凍結乾燥材料が記載されている (U S 4 , 4 4 2 , 6 5 5) 。不活性ガスは、止血の役割又は癒痕形成物質のデリバリーのための支持体の役割を有する材料を軽くするためにフィブリノーゲン／トロンビン反応性水溶液に任意に導入され、主に創傷の浄化を意図する。とりわけ、フィブリン接着剤及びコラーゲンの要素を含む別の非注入性凍結乾燥材料も、有効な止血剤及び接着剤として文献に記載されている (Nishida et al., Geka Shinryo [Surgical Diagnosis Treatment], 1994, 36, 1449-1459; Ochiai et al., Sanpujinka no jissai [Obstetric and Gynecologic Practice], 1995, 44, 253-262; Schelling et al., Ann. Surg., 1987, 205, 432-435; Shimamura et al., The Clinical Report, 1994, 28, 2994-2507) 。

【 0 0 1 5 】

相当な表面領域にわたってより均質でよりひかえ目な適用を許容するようにス

プレーの形態のいくつかの接着剤も提案されている。しかしながら、スプレーの使用は以下の欠点を有する：

i) 少くない量の二酸化炭素又は他のガスの寄与が危険な極めて高い圧力の危険があり、非侵入手術の適用について毒性である可能性がある。

【 0 0 1 6 】

ii) アプリケーターの推進ガスによる析出の部位にわたる接着性混合物のかなりの置換。

iii) 特別のスプレーアプリケーションの開発は接着剤装置のコストを著しく増加させ、特に推進ガスのソースへの装置の連結により、より複雑な環境を要求する可能性がある。

【 0 0 1 7 】

更に、断熱フォームのパネルのために、ガス（空気）をタンパク質の溶液に導入し、次に高温でその泡状の塊を乾燥させることにより得られる硬いタンパク質フォームが知られている（US 2, 584, 082）。

空気又は別の不活性ガスの存在下でタンパク質の溶液を攪拌することから得られるフォームも化粧用クリームに組み込まれている（CH 674 804）。

【 0 0 1 8 】

ガスのポリサッカライドの溶液への導入の後に、せん断しながら混合することにより得られ、創傷の癒着形成のため又は術後の抗癒着バリアーとしてスプレーすることにより適用することができるポリサッカライドフォームも知られている（EP 747 420）。

これらのフォームについて創傷又は器官への接着の特性は記載されていない。

【 0 0 1 9 】

本発明の目的は、上述の主要な欠点、特に毒性、特に流動性、数ステップでの適用及び成分の反応の時間、推進ガス（スプレー）の使用等の困難性を有さない接着剤を供することである。

これにより、本発明の目的は、流体であり、任意に注入可能で、生体適合性で、生体再吸収性でそして非毒性であり、外科的及び／又は治療的使用に適し、長時間、安定で、そして比較的簡単な条件下で保存することができる接着剤を供す

ることである。

【 0 0 2 0 】

本発明の目的は、生きている組織を含む生体組織を互いに又は移植した生体材料に、又は組織の腔を充填し又は組織創傷を保護するために接着するための接着剤を供することでもある。

本発明の目的は、簡単かつ実用的に用いられ、特にカテーテル又はカニューレにより注入することができる直ちに用いることができる形態の接着剤を供することでもある。

【 0 0 2 1 】

本発明の別の目的は、組織定着を容易にする構造を接着剤に与えることである。

別の目的は、その生体分解性が適用後、長期にわたって制御できる接着剤を供することである。

本発明の別の目的は、生物学的に活性な物質を含み得る接着剤を供することである。

【 0 0 2 2 】

本発明の目的は、更に、受容生物に対する危険性なしに容易に行うことができる接着剤を調製するための方法を供することである。

本発明の目的は、このような接着剤の簡単でかつ迅速な調製を許容するキットを供することでもある。

これらの目的及び以後の記載から浮かび上がる他の事項は、外科的及び／又は治療的使用のため、特に生物組織を互いに又は移植した生体材料に結合させ、並びに組織創傷を保護／瘢痕形成するための、生体適合性で非毒性である生体適合性流体接着タンパク質フォーム（泡状体）であって、生体適合性かつ非毒性のガス又はガスの混合物を含む、生体適合性で非毒性である生体適合性流体タンパク質接着マトリックスを含むことを特徴とするフォームにより得られる。

【 0 0 2 3 】

本発明の対象は、上述の接着性フォームを調製するための方法であって、均一に、生体適合性で非毒性のガス又はガスの混合物を、生体再吸収性で非毒性であ

る生体適合性接着タンパク質マトリックスの流体材料と、又はこのような材料の基本的構成物と、即時に混合することを含むことを特徴とする方法でもある。

本発明の対象は、このような接着フォームを調製するためのキットであって、再吸収性で非毒性である生体適合性接着性流体タンパク質マトリックスを形成するための構成物、生体適合性で非毒性のガス又はガスの混合物、並びに前記接着性マトリックスを形成するための構成物及び前記ガス又はガスの混合物を即時に混合するための手段を含むことを特徴とするキットでもある。

【 0 0 2 4 】

本発明者らは、驚くことに、流体及び接着性フォームが、ガス又はガスの混合物を、生物学的“接着剤 (g l u e s) ” に即時的に混合して、カニューレ又はカテーテルのような種々の装置を用いて、特に注入により適用することができる直ちに用いることができるフォームを作り出すことにより調製することができることを証明した。

【 0 0 2 5 】

本発明者らは、全く驚くことに、水性媒体に可溶化された形態又は固体形態、特に凍結乾燥されもしくは揮発性溶媒で乾燥させた形態で、タンパク質化合物を用いて、生体再吸収性で非毒性で、流動性で注入でき、そして外科的及び／又は治療的使用のために適した生体適合性接着タンパク質フォームを生産する可能性を証明した。

【 0 0 2 6 】

本発明者は、全く予期せぬことに、このようなフォームが、液体形態の生物学的“接着剤”と比べて、特に生きている組織を含む生物組織に対して接着特性を有し、同時により弾性で、受容生物により完全に許容されることを示した。それらは完全に分解されるまで、それらの接着特性を保存することができる。

彼らは、このようなフォームが、受容生物の細胞による迅速かつ有効な瘢痕形成の予期せぬ特徴を有することも発見した。

【 0 0 2 7 】

彼らは、予期せぬことに、このような接着フォームを、液体生物接着剤で慣用的に存在する問題、又はスプレーの推進ガスによる接着剤の分散の危険性なしに

、互いに又は接着性マトリックスに関して反応性の機能を有する移植された生体材料にかなり正確に適用することができることを発見した。これらの接着性のフォームの組織への検出は、それらの特定の微孔性組織及びそれらの不透明性のため容易に可視化する。ここで、これらは、慣用的な液体接着剤と、及びヒト又は動物組織と、極めて著しく異なる特徴である。

【 0 0 2 8 】

彼らは、これらのフォームの特定の製剤が、接着剤の重合の後、それらの外部表面上で“粘着”性を失うことも示し、これは、不要な組織に接着することなく、これらのフォームの標的組織への選択的かつ正確な適用を許容する。

彼らは、これらの接着性フォームに、重合剤により引き起こされ得る化学修飾に対して少なくとも部分的にそれらを保護するビヒクルと任意に組み合わせた生物活性物質を容易に組み込むことができることも発見した。

【 0 0 2 9 】

本発明は、以後により詳細に記載されよう。

本発明によれば、“接着性タンパク質マトリックス”は、接着特性を有し、非毒性で生体適合性で生体分解性である 1 又は複数のタンパク質成分から形成されたネットワークを意味することを意図する。ここでそのネットワークは、生体適合性で非毒性のガス又はガスの混合物を含む。

【 0 0 3 0 】

そのマトリックスの接着特性は、一般に、その基本的構成物の、好ましくは、フォームの形成前に供される 1 又は複数の重合／架橋剤により開始される、重合及び／又は架橋の方法により得られる。

用語“非毒性”は、その毒性が、法律により課せられる基準及び標準を満足しながら、適用の部位にかかわらず、ヒト又は動物の体のための手術及び／又は治療に用いることを許容するのに十分に低いいずれかの産物を意味することを意図する。

【 0 0 3 1 】

用語“生（体）分解性”は、進行的な分解（代謝）により消失することができるいずれかの成分を意味することを意図する。

接着性マトリックスは、その化学組成の観点から、周知の生物学的接着剤に相当し得る。

これにより、それは、少くとも部分的に重合／架橋された、非毒性で、生体適合性で、生分解性であり、そして接着特性を有するタンパク質化合物（基本的構成物）からなり、又はそれを含み得る。

【 0 0 3 2 】

“タンパク質化合物”との表現は、特にメチル化又はスクシニル化により任意に化学修飾された、タンパク質又はタンパク質の混合物をいう。

これにより、本発明は、一方で、重合／架橋することができ、潜在的に接着性であるタンパク質化合物（基本的構成物）、及び他方で、重合／架橋剤を含む組成物を用いて、それらを使用前に即時的に混合することにより生産された接着性マトリックスに広げられる。

【 0 0 3 3 】

本発明によれば、“重合／架橋することができ、潜在的に接着性であるタンパク質化合物”は、重合／架橋剤の効果の下で重合及び／又は架橋により水の存在下で接着特性を発達させることができる上述のいずれかのタンパク質化合物を意味することを意図する。

本発明によれば、重合／架橋剤は、一般に数分間、即時的に混合することにより、その重合を引き起こすように重合／架橋することができるタンパク質化合物と適合できる化合物又は化合物の混合物を含み得る。

【 0 0 3 4 】

そのタンパク質化合物は、水性媒体中に可溶化された形態、又は固体、特に粉末もしくは繊維の形態で用いられる。

重合／架橋剤は、水性媒体中に可溶化された形態、又は粉状形態、好ましくは凍結乾燥された形態でも用いることができる。

本発明の目的のために用いられるタンパク質は、好ましくは、コラーゲン、ゼラチン、アルブミン、エラスチン及びフィブリノーゲンから、好ましくはコラーゲン及びアルブミンから選択される。コラーゲンが特に好ましい。

【 0 0 3 5 】

本発明の目的のために用いるコラーゲンは、ヒト又は動物起源のものでも、遺伝子組換えにより得られたものであってもよい。それは、I、III、IV又はV型コラーゲン、又はそのいずれかの割合の混合物であってよい。

それは、ネイティブコラーゲン、即ち起源のヘリックス構造を保存するコラーゲンでも、任意に、特にそれを生理pHでより可溶性にするため、メチル化、スクシニル化又はいずれかの他の周知の方法により化学的に改変された、又は特にペプシン消化により、テロペプチドを除去するよう処理されたものであってもよい。

【 0 0 3 6 】

その分子量が100 kDaに近い α 鎖から主になる非加水分解化コラーゲンを用いることも可能である。この場合、そのコラーゲンのヘリックス構造は、少なくとも部分的に、例えば、形成されたゼラチンの加水分解開裂による分解を避けるためにおだやかな条件下で、特に40～70℃の温度に水の存在下でゆるやかに加熱することにより変性される。ここでは、一般に、コラーゲン鎖の10%未満が100 kDaより低い分子量を有する。

【 0 0 3 7 】

このようなゼラチンは、本発明の目的のために用いることもできるが、好ましくない方法である市販のゼラチンと区別するため、“加熱（化）コラーゲン”と呼ぶ。

上述のネイティブコラーゲン又は加熱コラーゲンは、繊維又は乾燥粉末の形態で、又はネイティブコラーゲンの重量で1～5%、好ましくは2.5～4%、及び加熱コラーゲンの重量で4～20%、好ましくは5～16%の濃度で水溶液の形態で用いられる。

【 0 0 3 8 】

ネイティブコラーゲン又は加熱コラーゲンの溶液のpHは、好ましくは中性、より好ましくは6～8である。

アルブミンを用いて接着性マトリックスを得る場合、それは好ましくは、乾燥粉末の形態、又は20～50重量%、好ましくは40～50重量%の濃度の水溶液の形態で用いられる。

【 0 0 3 9 】

フィブリノーゲンの場合、10～20%の濃度の粉末又は水溶液が好ましく用いられる。

本発明によれば、架橋剤は、その後の接着剤からの拡散が大きな分子量により妨げられ、直ちの直接的な毒性を防ぐ、高分子ポリアルデヒド又は親水性ポリマーのような、好ましくは1000を超える分子量を有する、天然又は合成反応性ポリマーから選択することができる。

【 0 0 4 0 】

“反応性ポリマー”という表現は、上述のタンパク質化合物と、特にそれらが含み得るアミン又はスルフヒドリル官能基に関して、上述のタンパク質化合物と反応することができるポリマーを意味することを意図する。

本発明により用いることができる高分子ポリアルデヒドは、天然起源の生分解性ポリアルデヒド、即ち生分解性の天然のポリマー由来のいくつかのアルデヒド官能基を有するいずれかの化合物を含む。

【 0 0 4 1 】

ポリアルデヒドは単独で又は混合して用いることができるが、本明細書に用いる用語“ポリアルデヒド”は、化合物のみ、又はこれらいくつかの化合物の混合物を等しくいう。

これらの高分子ポリアルデヒドは、それ自体知られた方法に従って、過ヨウ素酸又はその塩での、ポリサッカライド又はムコポリサッカライドの酸化によって調製することができる。

【 0 0 4 2 】

本発明の調製のために適したポリサッカライド又はムコポリサッカライドの中で、デンプン、デキストラン、アガロース、セルロース、キチン、キトサン、アルギン酸、グリコサミノグリカン類、ヒアルロン酸及びコンドロイチンスルフェート、又はそれらの誘導体を挙げることができて、デンプン、デキストラン又はヒアルロン酸が好ましく、デンプンが最も好ましい。

【 0 0 4 3 】

ポリアルデヒドは、過ヨウ素酸又はその塩の溶液を、ポリサッカライド又はム

コポリサッカライドの溶液に、0.01～1 M、好ましくは0.25～0.5 Mの最終濃度が得られるまでポリサッカライド又はムコポリサッカライドの溶液に加えることにより得ることができる。その酸化ステップは、ポリサッカライドの溶液、ゲル又は懸濁液で行うことができる。

【 0 0 4 4 】

酸化ポリサッカライドの調製は、次に、酸化反応産物及び試薬、並びに反応中に形成されたヨウ化誘導体又は過剰をそれらの化合物を除去する目的のため、透析、ディアフィルトレーション、ろ過及び限外ろ過にかけることができる。

使用前に、酸化ポリサッカライド又はムコポリサッカライドは、0.5～20重量%、好ましくは1～10重量%の濃度で自発的に獲得するpHで、酸溶液中に好ましくは保存される。

【 0 0 4 5 】

その溶液は、空気の欠如下で安定であり、好ましくは+1℃～+25℃で保存される。

1つの変形例で、酸化ポリサッカライド又はムコポリサッカライドは、酸凍結乾燥形態であり得、その凍結乾燥物の再溶解は、おそらく水中又は要求される生理緩衝液である。

【 0 0 4 6 】

本発明の目的のために役立つ親水性ポリマーは、好ましくは1,000～15,000 Da、好ましくは2,000～5,000の分子量を有する。それらは、例えば、ポリ(エチレン)グリコール(PEG)、ポリ(オキシエチレン)、ポリ(メチレングリコール)、ポリ(トリメチレングリコール)及びポリ(ビニルピロリドン)の誘導体を含み、PEGの誘導体が最も好ましい。それらは直鎖でも分枝鎖でもよいが、高度に架橋されていない。任意にエチレンジアミンコアを有するポリ(オキシエチレン)-ポリ(オキシプロピレン)ブロックコポリマー(4つの鎖端を有するポリマー)も適切であり得る。

【 0 0 4 7 】

親水性ポリマーは、そのタンパク質のアミン及びチオールと選択的に反応するように“活性化”される。そのポリマーの鎖の端には、アミンと反応するポリマ

ーのためのーポリマー鎖ーバインダーーLG（脱離基）、又はチオールと反応するポリマーのためのーポリマー鎖ーGRT（チオールに対して反応性の基）に類似する構造がある。

【 0 0 4 8 】

バインダーは、カーボネートーC（O）ー、モノエステルーRーCH₂ーC（O）ー又はジエステルーC（O）ーOー（CH₂）_nーOーC（O）ーからなる群から選択することができ；LGは、スクシニミジル、マレイミジル、フタリミジル、イミダゾリル、ニトロフェニル又はトレシル誘導体であり得、ここでスクシニミジル誘導体が最も好ましい。最後に、GRTは、ビニルスルホン、イオドアセトアミド、マレイミド、及びオルトピリジルジスルフィド誘導体から選択することができる。

【 0 0 4 9 】

これらの親水性ポリマーは、当業者に知られた方法に従って合成される。

それらは、シリンジにパッケージングされた脱水型で保存することができる。

第1の実施形態に従う接着性マトリックスの生産のために、上述のタンパク質化合物、特にコラーゲン、加熱コラーゲン又はアルブミンは水溶液中にある。それらは、そのタンパク質化合物の重合／架橋が好ましくは5分未満の時間でおこり得るような条件下で、重合／架橋剤と即時的に混合される。

【 0 0 5 0 】

接着性マトリックスの生産のための第2の実施形態によれば、上述のタンパク質化合物、特にコラーゲン、加熱コラーゲン又はアルブミンは、例えば第1のシリンジ内で、任意に滅菌された固体、特に乾燥粉末の形態であり得る。この実施形態において、重合／架橋剤を導入する前に粉末を可溶化するため更なるステップを計画することが好ましい。次に、緩衝水溶液を含む第2のシリンジを用いることができる。2つのシリンジのうち少なくとも1つは、混合物を37～50℃の温度に再加熱するために加熱手段と関連している。

【 0 0 5 1 】

タンパク質化合物は、2つのシリンジの内容物を一方から他方に逐次的に移すことにより溶解され、そのタンパク質化合物の迅速な可溶化を容易にする再加熱

の可能性を最も良く利用する。

その混合物が均一な水溶液である場合、次にそれは、第 1 の実施形態として接着性タンパク質の調製及び適用を続けるように架橋剤を導入することが可能である。

【 0 0 5 2 】

両方の実施形態においてタンパク質化合物が、実行される溶液中に、又は乾燥粉末として存在するなら、外科的適用のために滅菌調製物から出発することが好ましい。

この滅菌性は、原材料がろ過により、次に滅菌環境（特別の滅菌エリア、予め滅菌された装置及び隔離された雰囲気）で作業することにより滅菌される。

【 0 0 5 3 】

しかしながら、作業条件を簡単にすることができること、及び最終的な滅菌の認可された過程を採用することにより、その複雑さ及びコストを減少させることが有利である。このような滅菌は、好ましくはタンパク質溶液又は粉末が、フリーラジカル、例えば糖又はポリサッカライド、特に 1 % に近い濃度のデンプンを捕獲する“放射性保護”剤が、先に補給されている場合、ガンマ又はベータ照射により得ることができる。

【 0 0 5 4 】

重合／架橋時間は、それ自体知られた方法で、接着性マトリックスの生産のために用いられる構成物に従って制御することができる。

本発明の一実施形態において、接着性マトリックスは、酸化ポリサッカライド又はムコポリサッカライド、好ましくは酸化デンプン、酸化デキストラン又は酸化ヒアルロン酸と共に、好ましくはネイティブコラーゲン、加熱コラーゲン又はアルブミンの、溶液中のタンパク質化合物の混合物を用いて生産される。

【 0 0 5 5 】

これにより、接着性マトリックスは、本発明の第 1 の実施形態に従って、4 ～ 16 重量％、好ましくは 4 ～ 13 重量％の加熱コラーゲンの最終濃度で、1 : 10 ～ 1 : 160、好ましくは 1 : 15 ～ 1 : 50 の重量比でポリアルデヒド及び加熱コラーゲンの混合物を用いて調製することができる。ポリサッカライド溶液

の温度は、好ましくは $+1^{\circ}\text{C} \sim +30^{\circ}\text{C}$ であり、加熱コラーゲン溶液の温度はその流動性を許容する値、即ち $+37^{\circ}\text{C} \sim +50^{\circ}\text{C}$ である。

【 0 0 5 6 】

その接着性混合物の温度は、好ましくは $+35^{\circ}\text{C} \sim +41^{\circ}\text{C}$ である。その混合物の反応時間は、 $6.5 \sim 7.5$ の範囲で、加熱コラーゲンのpHの関数として調節することができる。1分未満の短い重合時間はpH 7.5 で得ることができ、加熱コラーゲン溶液をpH 6.5 に酸性化することにより次第に増加させることができる。

【 0 0 5 7 】

本発明の別の実施形態によれば、接着性マトリックスは、 $1 \sim 5\%$ 、好ましくは $2 \sim 4\%$ の最終濃度で、 $1:10 \sim 1:50$ 、好ましくは $1:10 \sim 1:30$ の重量比の酸化ポリアルデヒド及びネイティブコラーゲンの混合物を用いて調製される。酸化ポリサッカライド溶液の温度は、好ましくは $+1^{\circ}\text{C} \sim +30^{\circ}\text{C}$ であり、ネイティブコラーゲン溶液の温度は $+18^{\circ}\text{C} \sim +37^{\circ}\text{C}$ である。接着性混合物の温度は、好ましくは $+18^{\circ}\text{C} \sim +37^{\circ}\text{C}$ である。その混合物の反応時間は、 $6.5 \sim 7.5$ のコラーゲンのpH及び混合物の温度の関数として調節することができる。重合時間は、その混合物のpH及び／又は温度を減少させる場合、増加する。

【 0 0 5 8 】

本発明の別の実施形態によれば、接着性マトリックスは、 $4 \sim 20\%$ 、好ましくは $10 \sim 18\%$ の加熱コラーゲンの最終濃度で、 $1:50 \sim 1:1$ 、好ましくは $1:10 \sim 1:1$ の重量比で、溶液中の粉状活性化親水性ポリマー及び加熱コラーゲンの混合物を用いて調製される。1分未満から数10分の要求される架橋時間に従って、加熱コラーゲン溶液の温度は $+37^{\circ}\text{C} \sim +50^{\circ}\text{C}$ であり、加熱コラーゲン溶液のpHは $6.9 \sim 9.0$ である。得られた接着性混合物の温度は、好ましくは $+35^{\circ}\text{C} \sim +41^{\circ}\text{C}$ である。

【 0 0 5 9 】

更に別の実施形態によれば、酸化ポリアルデヒド及びアルブミンの $1:4$ 混合物を用いることができる。

本発明の一実施形態によれば、接着性マトリックスは、酸化的開裂を行うタンパク質を用いて調製することができる。

この場合、過ヨウ素酸又はその塩、好ましくは過ヨウ素酸ナトリウムでの処理は、それ自体、知られた方法に従って行うことができる。

【 0 0 6 0 】

コラーゲンは、本発明の目的のために特に好ましく、上述のいずれの型のものであってもよい。上述の好ましいものもこの場合に適用される。

コラーゲンの酸化的開裂による修飾が米国特許 4 9 3 1 5 4 6 に記載される。

この処理は、コラーゲン、ヒドロキシリシン及び糖の特定の構成物における開裂を引きおこし、これにより、コラーゲン溶液のpHが酸性である限り、その架橋を引きおこすことなく、反応性部位（アルデヒド基）を作り出す。

【 0 0 6 1 】

酸化コラーゲンは、+ 4 °C ~ + 2 5 °C の温度で凍結乾燥形態で保存することができる。

この実施形態によれば、次に、重合／架橋剤は、中性pHでその混合物の架橋を許容するために少しアルカリ性のpHの緩衝液からなる。

本発明によれば、これにより、接着性マトリックスは、脱水形態の酸化コラーゲンを、溶液中で緩衝液と混合することにより生産することができ、その溶液は、おそらくそれ自体、脱水型を緩衝液を水に溶かすことにより得られる。

【 0 0 6 2 】

本発明の別の実施形態によれば、アシル化又はスルホン化剤により修飾されたタンパク質は、接着性マトリックスの調製のために用いることができる。

上述のタンパク質及びその好ましいものもこの実施形態に適用される。

重合／架橋剤は、この場合、少しアルカリ性～中性のpH、好ましくは 6 . 0 ~ 9 . 0 、より好ましくは 8 . 0 ~ 8 . 5 の緩衝液でもある。

【 0 0 6 3 】

接着性マトリックスは、アシル化又はスホン化基を有するタンパク質を、緩衝液と、アシル化又はスルホン化反応がおこって接着性マトリックスを生産し得る

ように混合することにより、上述の方法と類似した方法により生産される。

接着性マトリックスがフィブリン接着剤に基づく本発明の別の実施形態によれば、現在市販されている接着剤、特にBaxterにより販売される“Tissucol（登録商標）”又は“Tisseel（登録商標）”、又はCentonにより販売される“Beriplast（登録商標）”を本発明の目的のために用いることができる。

【 0 0 6 4 】

それは、第XIII因子及び任意にフィブロネクチンを含有する濃フィブリンノーゲン溶液（70～140mg/mL）である。

この場合、重合／架橋剤は、コラーゲンを任意に加えることができるトロンビン溶液（4～100I.U.）からなる。

本発明によれば、選択される接着性マトリックスの型にかかわらず、接着性フォームは接着性マトリックスの形成の間に調製される。

【 0 0 6 5 】

これが、2つの基本的構成物（タンパク質化合物－重合／架橋剤）の混合から得られる場合、特に上述の場合、この混合物は、組織への適用の前に即時的に調製される。この作業の間、ガスは当業者に知られたいずれかの方法によって導入される。

ガスは、特に構成物の混合の間、又は予め形成された混合物に（即ち流体接着タンパク質マトリックス材料に）直接、導入することができる。

【 0 0 6 6 】

本発明の別の実施形態によれば、あまり好ましくないが、その場で2つの基本的構成物の混合を行う、即ち予め形成されたタンパク質化合物フォームの適用及び次の要求される重合／架橋剤のスプレーによる適用を思い描くことが可能である。

本発明の目的のために用いるガスは、空気又はその1もしくは複数の成分、例えば窒素、酸素、二酸化炭素からなり得る。

【 0 0 6 7 】

好ましいガスは空気、二酸化炭素及び窒素である。

それは、ガス又はガスの混合物であり得る（以後、一般的な用語“ガス”を用いて言及する）。

本発明によれば、接着性フォームの形成のために用いるガスは、好ましくは、接着性マトリックスの形成のための基本的構成物のうちの1つと、好適には、重合／架橋することができるタンパク質化合物と、及び／又は重合／架橋剤と会合させることができ、及び／又はこれらの構成物のうちの1つと独立して供給することができる。

【0068】

用語“会合（関連）”は、ガスが接着性マトリックスの構成物と同じ受容体内に単純に含まれる場合（粉末／ガス又は液体／ガス相）、例えばガスを、例えば粉状又は凍結乾燥形態の重合／架橋剤と混合する場合をいう。

ガスが接着性マトリックスのための構成物のうちの1つと会合する場合、フォームは、接着性マトリックスの生産のための前記成分の混合の間に形成される。

【0069】

ガスは、独立して、単独で、又は接着性フォームの調製の時に接着性マトリックス及びその構成要素と混合される、非毒性で生体適合性で生分解性であるビヒクルと組み合わせることができる。

それは、接着性マトリックスの形成のために用いられるもののようなタンパク質化合物であり得る。しかしながら、この場合、ビヒクルとして用いられるタンパク質化合物の量は、それが、それ自体、接着性マトリックスの形成を許容するような量である。

【0070】

ビヒクルは、フォームの活性を補強し又はそれに加えることができ、又は生物活性を有し得る。それは、特に、平行して、後に示すような1又は複数の生物学的物質のためのビヒクルを構成する。

この場合、接着性マトリックスの形成のための混合物は、（接着性マトリックス材料を生産するように）上述のように調製することができ、次に上述のように任意にビヒクルと組み合わせられたガスは、すでに泡形成の過程にある接着性マトリックスに導入される。

【 0 0 7 1 】

ガスを含む重合／架橋剤及び／又はビヒクルは、好ましくは脱水型、特に凍結乾燥型である。

変形例によってビヒクルは、あまり好ましくないが、液体型であってもよい。

本発明の別の態様によれば、フォームの形成を妨害しない他の成分を組み込むことができる。

【 0 0 7 2 】

接着性フォームは、これにより、適用される標的部位への生物学的に活性な物質のデリバリーを許容し得る。

これにより、極めて多様な生物学的に活性な物質をビヒクルと混合することができる。このような物質の例には、これらに限らないが、薬剤、ビタミン、成長因子、ホルモン、ステロイド誘導体、抗生物質、ワクチン、抗ウィルス剤、抗真菌剤、抗寄生体剤、抗腫瘍剤、抗癌剤、トキシシン、酵素、酵素インヒビター、タンパク質、ペプチド、無機化合物（例えば亜鉛、銅、セレンウム、カルシウム誘導体）、神経伝達物質、リポプロテイン、グリコプロテイン、免疫調節剤、イムノグロブリン及びそのフラグメント、造影剤、脂肪酸誘導体、ポリサッカライド、核酸（例えばDNA、RNAフラグメント）及びポリヌクレオチドがある。

【 0 0 7 3 】

成長因子の中で、次の因子又はそれらの対応する遺伝子が特に好ましい：EGF（内皮成長因子）、FGF（繊維芽細胞成長因子）及びTGF- β （トランスフォーミング成長因子- β ）、例えばBMP（骨形態発生タンパク質）、IGF（インスリン様成長因子）、PDGF（血小板由来成長因子）及びVEGF（血管内皮成長因子）型の因子、又はこれらの因子のアナログもしくは誘導体。

【 0 0 7 4 】

これらの生物学的に活性な物質は、溶液中でビヒクルと混合し、次に任意に当業者に知られたいずれかの手段により脱水される。

生物学的に活性な物質を含む最小容量の溶液に脱水ビヒクルをとること、又はこの（これらの）生物学的に活性な物質の濃縮液を脱水ビヒクルに加えることも可能である。

【 0 0 7 5 】

最後に、あまり好ましくないが、ガスと混合する前に1又は複数の生物学的に活性な物質と混合したピヒクルの水溶液を調製することも可能である。

均一に種々の産物及びガスを単に混合することからなる当業者に知られたいずれの方法も、フォームを調製するために用いることができる。その混合物は、直ちに用いる接着性フォームを生産するために、使用前、即時に調製される。

【 0 0 7 6 】

この目的のため、本発明を形成するキットも用いることができる。

フォームの形成のために要求される構成物は、好ましくはシリンジ内に別個に含まれ、ここでそのフォームは、均一な混合物ができるまで、一方のシリンジから他方のものに、その内容物を前後に移動させることにより生産される。

次に単一のシリンジに収集されたフォームは、要求される部位に適用することができる。

【 0 0 7 7 】

この目的のため、コラーゲン及び高分子ポリアルデヒドに基づく接着剤の調製のための、出願WO 98 / 1 5 2 9 9 に記載されるようなキットを用いることができる。

このキットは、各々コラーゲン成分及びポリアルデヒドを含む2つのシリンジの形態であってもよいことが思い出される。

【 0 0 7 8 】

これらのシリンジは、要求される流動性に従って、37℃～50℃の好適な温度にコラーゲンシリンジを再加熱した後、均一にそれらの成分を即時的に混合することができるようデザインされた混合手段を備えた維持装置につけられる。

タンパク質化合物及び重合／架橋剤は、上述の形態の1つでパッケージングされる。

【 0 0 7 9 】

要求される量のガスは、ガスが構成物の混合により接着性マトリックス材料の形成の時に導入されるように、シリンジの1つに、又はそれらの各々の間に共有されても存在する。

変形例において、上述のようにビヒクルと任意に組み合わせられた要求される量のガスは別のシリンジから得ることができ、この場合、それは、基本的構成物の混合の後に、例えば重合／架橋により、形成の過程において接着性マトリックス材料に導入され、ここでおそらくそれ自体、接着性マトリックス材料を形成するこのプレ混合物は、出願 WO 98 / 15299 に従ってキットを用いて生産される。

【 0 0 8 0 】

1 又は複数の生物活性物質と任意に組み合わせて、ビヒクルと混合する場合、ガスは、好ましくはその調製物の全容量の最小で 50 %、より好ましくは全容量の 90 % である。

混合は、好ましくは、フォームの全容量の 25 ~ 90 %、好ましくは 40 ~ 75 % のガスの容量を組み込んで行う。

【 0 0 8 1 】

この混合は、更に、ガスの生物接着剤への組み込みを促進する温度で行う。この温度は、好ましくは生理温度、より好ましくは 18 °C ~ 41 °C である。

好適な場合、この混合は、好ましくはその混合物の最初の粘度が最も低い場合に、架橋のまさに最初に行う。

本発明により生産されたフォームは、手術及び／又は治療に用いるために満足いく、これらを調製するものに基づく周知の生物接着剤のものに相当する接着特性を有する。

【 0 0 8 2 】

それらは、調製の最初の 5 分以内にすぐに連続的に用いなければならない。

接着性マトリックスの構成要素及びその生産の方法に従うと、周知の方法において、フォームの形成及び要求される部位へのその適用を許容するように、重合／架橋を制御することが可能である。

本発明の対象である接着剤は、まだ重合／架橋の過程にある場合、その形成直後に適用される。

【 0 0 8 3 】

それは、当業者に知られた方法によって適用することができる。それは、好ま

しくは、シリンジ、カテーテル、カニューレ、又はフォームが容易に流れるのを許容するいずれかの他の等価の材料を介して注入することができる。特に、円柱状の装置のために、内部直径は0.1～2mmであり得る。その注入システムは、アプリケーションを含んでもよく、その形態は、要求される使用に特に適している。

【 0 0 8 4 】

本発明の別の実施形態によれば、フォームは、上述のような要求される構成物の後の適用によりその場で形成することができる。

フォームは、重合／架橋の後、その粘性を失い、介入の部位に近い不要な組織を接着することなく、標的組織への選択的かつ正確な適用を許容する。

フォーム構造における接着性マトリックスのセッティングの比率はガスの導入により影響を受けない。

【 0 0 8 5 】

本発明による接着性フォームは非毒性で、宿主生物により完全に十分に許容され、同時に、周知の接着剤より弾性である。

最終的なフォームの密度は、導入されるガスの量及び予想される適用に従って種々である。

それは、一般に50～200ミクロンの直径の孔の存在を特徴とする。

【 0 0 8 6 】

この多孔質は、その製品に、血小板に対して顕著な特性を与え、それは、接触の大きな外部表面領域のため、より迅速に接着することができる。凝固因子を分泌する活性化血小板のアグリゲートが止血形態のために要求される。これにより、接着性マトリックスは、この多孔性のため、創傷の機械的密閉及び血液との接触による血小板活性化の組み合わせた作用を介して出血を停止させることができる止血特性を獲得する。

【 0 0 8 7 】

この多孔性は、接着性マトリックスに大きな弾性を与え、それは、肺創傷を密閉し、空気の漏れを停止させるための選択された製品にし、同時に、腫瘍の捻除の後の局所的な止血を行う。

接着性材料の多孔性は、その細胞癒痕形成、その生分解、及びその癒痕組織への変換を容易にし、同時に、創傷に隣接した器官での術後の癒着の形成を避ける。

【 0 0 8 8 】

生きている組織へのフォームの析出は、特に、それらの特定の多孔性構造及びそれらの不透明性のため、見るのが容易である。

その低い密度のため、液体生物接着剤に慣用的にある問題、又はスプレーの推進ガスによる接着剤の分散の危険なしに、組織にかなり正確に適用することができる。

【 0 0 8 9 】

その最初の流動性は、シリンジにより注入を、好適なカニューレ及びカテーテルにより腹腔鏡の使用を許容する。それは、腹腔鏡のような開放手術においてペイントすることにより、スパチュラ又はブラシを用いて容易に広げることができる。

それゆえ、術後癒着の形成を回避しながらこの多孔性組織接着剤は、特に、血管又は組織、外科的又は外傷的創傷の止血を行い、それらを保護し、そしてその癒痕形成を容易にするために示される。

【 0 0 9 0 】

本発明による接着性フォームは、これらに限らないが、血管又は組織創傷の出血を防止し又は停止させるため、生きている組織を含む生物組織を互いに又は移植した生体材料に結合させるため、外科的又は慢性創傷を癒痕形成するため、縫合を保護し又は密閉するため、術後の癒着の形成を防止するため、局所的適用及び組織腔（骨、軟骨、皮膚障害等）を充填するために特に薬剤と共に生物学的に活性な物質をデリバリーするために用いることができる。

【 0 0 9 1 】

それゆえ、本発明の対象は、生物の好適な部位に、アクセスの好適な経路を介して、その部位を接着し、要求される効果を引き起こすために有効である本発明による所定量のフォームをおくことを含む外科的又は医学的処置方法でもある。

これにより、本発明は、生きている組織を含む生物組織を互いに、又は接着性

マトリックスの構成物のうちの 1 つに対して反応性である官能基を有する移植された生体材料を保護し又は結合させるための方法であって、上述のように、同時に、又は逐次的に、フォームの形成のために要求される構成物（接着性マトリックス及びガスの構成物）を混合することを含む方法を提供する。

【 0 0 9 2 】

得られた流体フォームは、次に、迅速に、即ち 3 分未満で、接着性マトリックスの重合／架橋の間に、前記組織及び／又は前記生体材料に、20℃～41℃の温度で適用され、次にこの全てが重合／架橋するために残る。

適用前の混合は、上述のキットで行うことができる。

重合／架橋時間は、それ自体、知られた方法で、接着マトリックス及びそれらの保護の成分の関数として調節することができ、pH、濃度及び温度を変えることができる。

【 0 0 9 3 】

生体内再吸収時間は、当業界で知られるような、接着マトリックスの基本的な構成物を化学的に改変することにより、又は重合／架橋剤の濃度を調節することにより調節することができる。

接着性マトリックスの組成により、この時間は数日から数ヶ月に変化させることができる。

【 0 0 9 4 】

その適用に従って、移植された生体材料は、それ自体、接着性フォームからなり、それは次に単独で用いられる。

他の場合、それは、例えば接着性マトリックスの構成アルデヒドに対して反応性であるアミン含有官能基を有する生体材料を結合させることに関する。

他の適用のために、特に、術後癒着の防止のために、本発明による接着性フォームは、単独で用いることができ、又は二成分材料を形成するようにコラーゲンに基づくフィルムにかたく結合させることができる。

【 0 0 9 5 】

それは、WO 98 34656 に記載されるようなコラーゲンフィルムであってよい。

フィルムを形成するために用いられるコラーゲンは、フォームを生産するための上述のものに相当する。加熱コラーゲンが好ましい。

コラーゲンフィルムは、好ましくはコラーゲンに対して化学的に非反応性である、即ち存在するコラーゲンと反応することができない、特に架橋の間にそれと共有結合を形成しない親水性添加物も含み得る。

【 0 0 9 6 】

親水性添加物は、好ましくは、ポリエチレングリコールからなる。

二成分材料自体の調製は、フィルム形成層及び接着性フォームを、形成の過程で、又は形成した後、即ち要求される構成物の混合の後に、アSEMBルすることにより行われる。

そのアSEMBリーは、フィルムを作することを意図した c o l l a g e n t 溶液を、好適な実質的に平らな支持体上に注ぎ、それを均一に分散させることを含む。

【 0 0 9 7 】

支持体は、それが上述の成分と反応せず、架橋過程に関与しない点で不活性である。それは、好ましくは、親水性で、例えば P V C 又はポリスチレンから作られる。

しかしながら、この支持体は、少し接着性であり続け、後に外科的使用の時に分離され得るはがすことができる材料からなり得る。

【 0 0 9 8 】

この支持体は、それ自体、溶液が注がれたフィルム、例えば乾燥コラーゲンのフィルム、又は別個によりゲル化の進展した状態のコラーゲン材料ゲルの層からなり得る。

適用される薄い層の密度は、好ましくは $0.1 \sim 0.3 \text{ g/cm}^2$ である。

このコラーゲン溶液は、 $4 \sim 30^\circ\text{C}$ 、好ましくは $18 \sim 25^\circ\text{C}$ の有利な温度で注がれる。

【 0 0 9 9 】

この溶液は、ゲルに残り、上述のように調製されたフォームはゲル化の過程で前記溶液に適用される。換言すれば、多孔質フォームの層は、単純な重力により

、又は任意に、フォームのいずれかの認められる圧縮を引き起こすには不十分である少しの圧縮により続けられる適用で、ゲルに析出される。

ゲル化の過程で多孔性フォームを溶液に適用する時は、そのゲルはまだやわらかく、その多孔性フォームが0.05～2mmのオーダー、好ましくは0.1～0.5mmのオーダーが有利である距離にわたって浸透するのを許容する。

【 0 1 0 0 】

一般に、ゲル化する溶液が4℃～30℃の温度にある場合、その多孔性フォーム層は、その溶液をそれを保持する表面に分散させた後5及び30分に適用される。

これは、本発明に従って生体複合材料を得るために乾燥するまで放出され、又は凍結乾燥される。

【 0 1 0 1 】

接着性マトリックスの重合／架橋は、好適な場合、2成分材料の乾燥の間に行われ、又は終了する。

この乾燥は、4℃～30℃の温度で、好ましくは18℃～25℃の温度で得ることができる。

その材料の乾燥は、必要なら、滅菌空気の流れの中で行うことができる。

【 0 1 0 2 】

乾燥させた後、本発明による2成分材料は、その支持体から分離することができる。変形例において、それは、コラーゲン溶液が注がれたコラーゲン材料のフィルム又は層を含み、又はそれを組み込む。

本発明による2成分材料は、室温で安定であり、おそらく37～40℃に上がる温度で取り扱うのに十分に長い間、安定であり続ける。

【 0 1 0 3 】

コラーゲンフィルムの厚さは、好ましくは100μm未満、より好ましくは30～75μmである。

そのフォームの厚さは、好ましくは0.2cm～1.5cm、より好ましくは0.3～1.2cmである。

このような二層材料は、一セットの特に驚く止血、抗術後癒着及び生分解性の

クオリティーを示す。

【 0 1 0 4 】

本発明による二成分コラーゲン材料は、特に出血性創傷に対して、術後癒着を防止するために特に好適である。なぜならそのフィルムが癒着を防ぎ、複合材料が創傷に十分に接着し、そして接触面で出血しないからである。

その止血及び術後癒着の防止の特性に加えて、本発明によるコラーゲン材料は、コラーゲンフィルムをフォームの高度に多孔性の層に組み合わせる複合構造により、癒痕形成を容易にする。

【 0 1 0 5 】

その材料の多孔性部分は、周囲の細胞が容易に入ることができる。そのフィルムは、細菌及び微生物に対するバリアーを形成する特性のため、数日間、進行中の癒痕形成を保護する。

癒着を防止するための材料のフィルムの力は、創傷の癒痕形成を加速する材料のフォームの層によっても補強される。

【 0 1 0 6 】

本発明によれば、これにより、二成分コラーゲン材料は、止血及び出血性創傷に対する術後癒着を防止するために役立ち、同時に治癒を容易にする。

更に、高分子親水性添加物は、数日で、コラーゲン材料を介しての拡散により除去される。ここでこの材料の膨潤は1ヶ月未満でコラーゲンフィルムの分解を促進する。

【 0 1 0 7 】

本発明による二成分材料は、癒痕形成を促進するために用いることもできる。その極めて開放された多孔質構造は、迅速な細胞癒痕形成を許容する。フィルムに関して、それは、特定の細胞にアクセスできるようにするために多孔性部分を単離することを可能にする。

例として、繊維芽細胞は、試験管内で、その材料の多孔性部分で培養することができ、上皮細胞は、2つの一時的な別個のコンパートメントを作り出すことにより、フィルム上で培養することができる。

【 0 1 0 8 】

本発明は、非限定的に以下に示す例により、より詳細に記載されよう。

実施例 1：加熱コラーゲン及び酸化デンプンを組み合わせる接着性マトリックスからなる接着性フォーム（GOS 接着剤）

酸化デンプンの調製：

可溶性デンプンの溶液を、全体に均一の溶液が得られるまで、20%の濃度で、75℃の温度で調製し、次に2倍に希釈する。次にそれをプレろ過し、0.22 μ m の多孔度の膜を介してろ過する。

【0109】

次に、デンプンのpHをpH3.0～3.2に調節し、デンプンの濃度は6%である。次に、0.36 μ の最初濃度のメタヨウ素酸ナトリウムを室温で酸化デンプンの溶液に加える。2時間の処理の後、その溶液を、限外ろ過した脱塩水に対して5～10 kDa の範囲のカット・オフしきい値を有する膜で透析する。その透析を、酸化反応及び試薬の透析可能産物及び反応の間に形成されたヨウ化誘導体の全体が除去されるまで続ける。

【0110】

次に、酸化デンプンの溶液の濃度を要求される値、1～3%に調節する。それをプレろ過し、0.22 μ m の多孔度を有する膜を介して滅菌ろ過する。

その産物は、空気の欠如下で、少なくとも1年、+4℃～+25℃の温度で安定である。

接着性フォームの調製のため、酸化デンプンの溶液は、シリンジ内にパッケージングすることができる。

【0111】

シリンジ又はボトル内にパッケージングした酸化デンプンの溶液は、滅菌条件下で凍結乾燥し、空気の欠如下で+4℃～+25℃の温度で保存することができる。

後の凍結乾燥した酸化デンプンの溶解は、必要なら、3～30%に到達し得る酸化デンプンのより濃縮された溶液を調製することを可能にする。

【0112】

加熱コラーゲンの調製：

用いるコラーゲンは、当業者に知られたソースからのものである。それがウシⅠ型コラーゲンであるなら、それは酸溶解性であるか、又はペプシンでの消化により溶解される。それがヒト胎盤からのコラーゲンであるなら、それは、特許EP-A-0 214 035に記載される方法に従って、ペプシンでの抽出により調製することができる。

【 0 1 1 3 】

例えば、Ⅰ型及びⅢ型の混合物が得られる。次にこれは、任意に、Ⅰ型及び／又はⅢ型を分離するために用いることができる。コラーゲンは、遺伝子組換え技術によっても調製することができる。

4～16%の濃度でのコラーゲンの酸溶液は、42℃の温度で、酸コラーゲン粉末を水に次第に加えることにより調製される。極めて迅速に2～5分の攪拌の後、流動性が許容されるとすぐに、溶液を6.5～7.5の範囲のpHで水酸化ナトリウムのモル溶液で中和する。

【 0 1 1 4 】

中和の後、コラーゲン溶液の温度は、プレろ過の後、0.22 μ mの多孔性を有する膜を介してのろ過により滅菌されるように、+60℃に調節される。

キットに用いるために、特に出願WO 98/15299に記載されるように、次にコラーゲンは、シリンジ内に滅菌的に分配され、+4℃～+25℃の温度で保存され、そして少なくとも1年、安定である。

【 0 1 1 5 】

1つの変形例において、加熱コラーゲンの溶液に、1%のデンプン又は電離放射線に対して保護する他の剤を補給する。その混合物は、0.22ミクロンの多孔性を有する膜を介して42℃の温度でろ過され、最終的に5～30キログレーの投与量でガンマ照射により滅菌することができるシリンジに分配される。

G O S 接着性フォームの調製

16%の濃度の2mLの加熱コラーゲンを充填し、コラーゲンの温度を+44℃～+50℃に維持することができるサーモスタットを備えた耐性フィルムでおおった5mL加熱シリンジを調製する。2.5mLの空気及び0.5mLの酸化デンプンを含む5mLシリンジも調製する。

【 0 1 1 6 】

次に、単純なコネクターによりつなげられたこれら2つのシリンジの内容物を、完全に均一の接着フォームが作られるまで、10～20回、全体的に一方の内容物を空にして他方に送ることを交互に行うことにより混合する。

接着性フォームの調製の別の変形例に従って、16%の濃度の2mLの加熱コラーゲンを滴たし、コラーゲンの温度を+44℃～+50℃に維持することができるサーモスタットを備えた耐性フィルムでおおった2.5mL加熱シリンジを調製する。更に、0.5mLの酸化デンプンを含むシリンジを調製する。これら2つのシリンジを特許出願WO98/15299に記載されるようにキット内にアセンブルする。それらを、その機能が完全に均一の接着性ゲルを作り出すことであるコネクター／ミキサーセット・ラップを介して一緒にする。そのキットの内容物を単純なコネクターにより、空の5mLシリンジに移す。平行して、2.5mLの空気を含む5mLシリンジを調製する。

【 0 1 1 7 】

次に、これら2つのシリンジの内容物を上述のように混合する。

別の変形例に従うと、先のものの半分の密度の接着性フォームを調製することが可能である。このため、生物学的‘接着剤’のためのキットを、16%の濃度の2mLの加熱コラーゲンを充填した2.5mLシリンジ及び0.5mLの酸化デンプンを含むシリンジを用いてアセンブルする。このキットの内容物を10mLシリンジにそそぐ。更に、7.5mLの空気を含む10mLシリンジを調製する。

【 0 1 1 8 】

次に、2つのシリンジの内容物を上述の方法に従って混合する。

実施例2：“GOS接着剤”及びネイティブコラーゲンを用いて調製した接着性マトリックスからなるフォーム

ネイティブコラーゲンの調製

限外ろ過し脱塩した水中3%のコラーゲンの溶液を調製する。次に、0.22Mのリン酸二ナトリウムの溶液を加えて20mMの最終濃度を得る。そのコラーゲン懸濁液を解膠ブレードミキサーでホモジナイズし、次にそのpHを塩酸の濃水溶液で7.4～7.5に調節する。

【 0 1 1 9 】

次にその中和したコラーゲン懸濁液を、脱塩し限外ろ過した水で希釈し1.8%のコラーゲン濃度及び1.3mMのリン酸濃度を得る。それを、コラーゲンの完全な繊維形成を得るために一晩放置する。

次の日に、コラーゲン懸濁液を10,000～15,000Gで遠心してコラーゲン沈殿を濃縮し、次にそれを解膠ブレードミキサーで均一にする。2重量%のコラーゲン沈殿2gを5mLのシリンジに分配し、それを当業者に知られた条件下で凍結乾燥する。

【 0 1 2 0 】

凍結乾燥の後、コラーゲンを圧縮することなくフランジャーをコラーゲンのシリンジに導入する。25～35kgyの投与量でのガンマ照射により滅菌されたこれらのシリンジは、気密の二重ラッピングでパッケージングされる。

2つの別の主な変形型を、この滅菌ネイティブコラーゲン粉末を調製するために用いることができる。

【 0 1 2 1 】

a) 2%コラーゲン沈殿の懸濁液に、凍結乾燥前に1%のデンプンを補給して、コラーゲン分子の滅菌の最終照射の加水分解効果を減少させる。

b) コラーゲン懸濁液を、滅菌最終照射を避けるためにその過程全体を滅菌的に調製する。

この方法の他の変形例は、より多い又はより少ない量及び濃度のコラーゲンを導入することである。

【 0 1 2 2 】

“GOS接着剤”の要素の調製

GOS接着剤の要素を、実施例1に記載されるように、8%の濃度の加熱コラーゲンのシリンジ及び1.5%の濃度の酸化デンプンのシリンジを含むように調節する。

GOS／ネイティブコラーゲン接着性フォームの調製

先の例に記載されるように、各々8及び15%の濃度の加熱コラーゲン及び酸化デンプン（GOS接着剤）の混合物を最初に調製する。このため、出願WO9

8 / 1 5 2 9 9 に記載されるようなキットを用いること及び2.5 mLのゲルを5 mLシリンジに移すことが可能である。単純なコネクターにより連結した5 mLのシリンジ、8 %の加熱コラーゲン2 mLを含むもの及び1.5 %の酸化デンプン0.5 mLを含むものを用いることも可能である。それら2つの産物の混合は、完全に均一なゲルが作られるまで、5 ~ 10回、2つのシリンジの一方の内容物を他方に全体を移すことを交互に行うことにより行われる。

【 0 1 2 3 】

この例のために用いられるコラーゲンは、ウシの皮膚から抽出したウシI型コラーゲンであり、既に記載された技術に従って、任意にペプシンで消化され、精製される。同様に、他の動物種又はヒト起源のI型又はIII型コラーゲン、又は組換え源のコラーゲンもしくは他の型のコラーゲン、又はいずれかの割合のそれらの混合物を用いることが可能である。

【 0 1 2 4 】

次に、凍結乾燥したコラーゲンのシリンジは、混合GOS接着剤のシリンジに接続される。その2つの産物は、GOS接着剤を凍結乾燥したコラーゲンを含むシリンジに通過させ、そして次に均一なフォームが作られるまで、10 ~ 20回、プランジャーを前後に押すことにより一方のシリンジから他方のシリンジに内容物を移すことにより始めて、均一にする。

【 0 1 2 5 】

GOS接着剤を調製したら、組織に接着することができるよう、接着性マトリックスが全体的に重合する前に、フォームを調製し、用いなければならない。

実施例 3 : GOS接着剤及びFGF（繊維芽細胞成長因子）と混合したネイティブコラーゲンを用いて調製した接着性マトリックスからなるフォーム

GOS接着剤を、先の例に記載されるように、8 %の加熱コラーゲン2 mL及び1.5 %の酸化デンプン0.5 mLを用いて調製する。それを5 mLシリンジに移す。

【 0 1 2 6 】

100 ~ 250 mLの組換えヒトFGFの溶液をネイティブコラーゲンのシリンジに加える。

次に、このネイティブコラーゲンのシリンジを、均一なG O S / ネイティブコラーゲン - F G F フォームが作られるまで、上述のように、G O S 接着剤と混合する。

【 0 1 2 7 】

別の変形例によれば、F G F は、コラーゲン / F G F 調製物をG O S 接着剤と混合する前に、5 ~ 1 2 0 分、所定期間、ネイティブコラーゲンに吸着させることができる。

この例の別の変形例は、以下の方法に従ってF G F をネイティブコラーゲンと共に凍結乾燥することからなる。そのコラーゲン沈殿はF G F の溶液と混合され、これは均一化され、シリンジ当り2 g の割合で5 mLシリンジに分配され、凍結乾燥され、そして滅菌的に調製され、ガンマ照射により滅菌される。この凍結乾燥したコラーゲン及びF G F のシリンジを、均一のフォームが作られるまで、実施例2に記載されるように、2 . 5 mLのG O S 接着剤と混合する。

【 0 1 2 8 】

この接着性フォームの組成は、特に神経障害を充填するために用いられ、ここでF G F は神経再生を容易にする因子である。

この例において、F G F は、F G F と等価の活性を有する他の成長因子、又はその混合物で置きかえることができる。

実施例4 : G O S 接着剤及びI L - 2 (II型インターロイキン) と混合したネイティブコラーゲンを用いて調製した接着性マトリックスからなるフォーム

F G F 又はその等価物をI L - 2 と置きかえて実施例3をくり返す。

【 0 1 2 9 】

このG O S / ネイティブコラーゲン - I L - 2 接着性フォームは、発癌の抑制及び腫瘍の発達の阻害に特に有利である。それは、他の産物と共に、単独で、又は癌及び腫瘍の発達を阻害するものと混合して調製することもできる。

実施例5 : G O S 接着剤及び細胞成長又は組織再生因子と混合したネイティブコラーゲンを用いて調製した接着性マトリックスからなるフォーム

実施例3及び4は、皮膚、骨、軟骨等の創傷に対して活性である接着性フォームを調製するために、いずれかの細胞成長又は組織再生因子と混合したネイティ

ブコラーゲンでくり返すことができる。

【 0 1 3 0 】

実施例 6 : 乾燥粉末形態のコラーゲンを用いて調製した接着性フォーム

コラーゲンの調製 :

コラーゲンの酸溶液を、20～25℃で酸コラーゲン粉末を水に徐々に加えることにより2%の濃度で調製する。溶液を完全に均一にした直後に、コラーゲンを、6.5～8のpHを得るために、10mMの最終限度でリン酸ナトリウムを加えることにより中和する。次に、コラーゲンの溶液を20～25℃で一晩、放置し、次にその沈殿したコラーゲンを遠心により回収する。それを一連のアセトン洗浄で、脱塩し、脱水する：順に、1 bathの90／10、m／m、アセトン／水；3 bathの80／20、m／m、アセトン／水及び3 bathの100%アセトン。

【 0 1 3 1 】

次にそのコラーゲンを、2.5mLの容量で、シリンジ当り80～400mgの乾燥コラーゲンの割合で5mLシリンジに分配する。用いるコラーゲンは、組換えコラーゲンを含む当業者に知られたソースからのものである。それがウシI型コラーゲンであるなら、それは、酸で可溶化することができ、又はペプシンでの消化により溶解することができる。それがヒト胎盤からのコラーゲンであるなら、それは、特許EP-A-0 214 035に記載される方法に従って、ペプシンでの抽出により調製することができる。

【 0 1 3 2 】

コラーゲンは、最初のろ過の後、滅菌領域内でその過程全体を適して滅菌状態で、及び当業者に知られた好適な装置で調製することができる。

1つの変形例において、Becton-Dickinsonシリンジref：“STERIFICC”内に分配されたコラーゲンは、好ましくは照射の加水分解効果に対して保護する剤、例えばデンプンの存在下で、5～35キログレイの投与量でのガンマ照射により滅菌することができる。必要に応じてフォームの将来的な量を増加させるために、更なる容量の空気をシリンジに組み込むことができる。

【 0 1 3 3 】

同じBecton-Dickinsonシリンジを用いて、慣用的な方法に従う、滅菌蒸留水又は生理緩衝液のシリンジの調製

このシリンジは、補足容量の空気も含むことができる。有利には、2つのシリンジの一方には、温度を30℃～50℃に制御することができる加熱システムが備え付けられ、又は会合している。

【0134】

フォームの調製：

2つのシリンジの一方を加熱した後、それを、最初の塊及びコラーゲンの粒子によるプラグングを避けるために十分に大きい2mmに近い内径のコネクターにより他方のシリンジに接続する。

その液体シリンジの内容物を粉末を含むシリンジに送り、そしてその混合を、その目的がコラーゲンのヘリックス構造を保存することである場合に37℃未満の温度で、その目的がヘリックス構造を減少させ又はヘリックス構造を除去する場合に37～50℃で、10～20回、逐次的に移すことにより行う。

【0135】

フォームが均一になった時、それは、先の例で調製された、室温で酸化デンプンを含む滅菌シリンジと混合する前に、（用いるシリンジにより暖い又は室温で）2つのシリンジの一方の中に保存される。

酸化デンプンを上述のフォームに組み込んだ後、最終的なフォームを40℃未満、最も一般的には37℃近くで用い、それがまだ十分に流動性である間、次の5分以内に用いなければならない。

【0136】

架橋の比率は、用いるコラーゲンのpH及びその温度を調節することにより容易に制御することができる。

変形例において、抗生物質、抗炎症剤、成長因子、等のような更なる生物学的機能を供する1又は複数の生物学的産物をコラーゲン粉末のシリンジに又はそれを取るための水溶液を含むシリンジに加えることができる。

【0137】

実施例7：アルブミン及び酸化デンプン（AOS接着剤）を含む接着性マトリ

ックスからなる接着性フォーム

10～25%の酸化デンプンの溶液を実施例1に記載されるように調製する。

アルブミンの調製

用いるアルブミンは、知られたソースからのものである。それは、ヒトもしくは動物起源のものであり、又は遺伝子組換え技術から得られる。

【0138】

アルブミンは、20～50%の濃度で採取され、水酸化ナトリウム及び塩酸の濃縮液でpH6.5～7.5に中和され、そして0.22 μ mの多孔性を有する膜を介して滅菌的にろ過される。この溶液2mLを次に5mLシリンジにパッケージングする。

アルブミンシリンジ及び10～25%の酸化デンプン0.5mLを含むシリンジを、実施例1に記載される方法に従ってキット内でアセンブレする。そのキットをAOSと呼ぶ。

【0139】

AOS／ネイティブコラーゲン接着フォームの調製

先の例に記載されるように、各々20～50%及び10～25%の濃度のアルブミン及び酸化デンプンの混合物を、最初に、いずれの空気も導入せずに、調製することができる。このため、実施例2でGOS接着剤を調製するために用いたものと同様のキットを用いること、及び2.5mLのゲルを5mLシリンジに移すことが可能である。

【0140】

次に、AOS接着剤のシリンジを2.5mLの空気を含む5mLシリンジに接続する。その2つの産物を、AOL接着剤を含むシリンジに空気を流し、そして次に5mLの容量の均一のフォームが作られるまで10～20回、プランジャーを前後させることにより、一方のシリンジから他方のシリンジに内容物を移すことにより均一にする。

【0141】

単純なコネクターによりつながられた2つの5mLシリンジ、20～50%のアルブミン2mLを含むもの及び10～25%の酸化デンプン0.5mL及び2.5mL

の空気を含むものを用いることも可能である。2つの産物の混合は、完全に均一なフォームが作られるまで5～10回、2つのシリンジの一方の内容物を他方に全体的に交互に移すことにより行う。

【 0 1 4 2 】

A O L 接着剤を調製した後、そのフォームは、組織に接着することができるために、その接着性マトリックスが全体的に重合する前に、調製され、用いられなければならない。

実施例 8：脱水アルブミン及び溶液中の酸化デンプンを用いて調製した接着性フォーム

－アルブミンの調製

粉末アルブミンの 0.4～1.25 g を 5 mL B e c t o n - D i c k i n s o n シリンジ / r e f : “ S T E R I F I C C ” 中で滅菌的にパッケージングする。

【 0 1 4 3 】

－液体の温度を 37～45℃にすることを可能にする加熱システムと会合した蒸留水、又は生理溶液、P B S の 2 mL シリンジの調製。

次に2つのシリンジを1～2 mmの直径を有するコネクターにより端と端とをつなぐ。

次に、2つのシリンジの内容物を、一方を他方に連続的に移すことにより混合する。10～20回、移した後、2つのシリンジの一方にその均一なアルブミンフォームを収集する。

【 0 1 4 4 】

次にこれを6%の酸化デンプン 0.5 mLを含むシリンジに接続し、シリンジの一方から他方に連続的に移すことにより混合した後、接着性タンパク質フォームを、治療すべき創傷に適用することができる。

実施例 9：アルブミン及びアミンに対して反応性である活性化求電子基を有するポリエチレングリコール誘導体を組み合わせる接着性マトリックスからなる接着性フォーム。

【 0 1 4 5 】

アルブミンを実施例7又は8に記載されるように20～50%の濃度でとり、pH6.5～9に中和する。2mLのこの溶液を次に5mLシリンジ中にパッケージングする。

活性化求電性PEGの中で、単独で、又はいずれかの割合で混合して、1000Da超の分子量の、SPA-PAG（スクシニミジルプロピオネートPEG）、SCM-PEG（カルボキシメチル化PEGのスクシニミジルエステル）及びBTC-PEG（PEGのベンゾトリアゾールカーボネート）、PEG誘導体、Shearwater Polymersにより販売される製品を等しく用いることができる。特許出願WO96/03159（Minnesota Mining and Manufacturing company）に記載されるように合成されたPEG-SS2（ジスクシニミジルスクシネートPEG）も用いることができる。脱水型の活性化PEG 40～500mgは、5mLシリンジ当りにパッケージングされる。

【0146】

接着性フォームの調製

アルブミン及び活性化PEGの混合を、アルブミンシリンジの全体的内容物をPEGシリンジに移し、次に5mLの全体的に均一のゲルが作られるまで5～10回、2つのシリンジの一方の内容物を他方に移すことにより行う。

アルブミン及び活性化PEGの求電誘導体を組み合わせる接着剤を調製した後、そのフォームは、組織に接着することができるように、接着剤が全体的に重合する前に調製され、用いられなければならない。

【0147】

重合の比率、及びそれゆえ、産物を用いるために利用できる時間は、その混合物のpHによって制御される。より酸性のpH、よりゆっくりとした反応及びより長い時間が利用できる。

実施例10：アルブミン及びスルフヒドリルに対して反応性である活性化PEG誘導体を組み合わせる接着性マトリックスからなる接着性フォーム

アルブミンを先の例に記載されるように、20～50%の濃度でとり、pH6.5～9で中和する。次にこの溶液2mLを5mLのシリンジにパッケージングする。

【0148】

スルフヒドリルに対して反応性である活性化PEGの中で、単独で又はいずれかの割合で混合して、1000Daより高い分子量のVS-PEG（ビニルスルホンPEG）、MAL-PEG（マレイミドPEG）及びOPSS-PEG（オルトピリジルジスルフィドPEG）、PEG誘導体、Shearwater Polymersにより販売される製品を等しく用いることができる。40～500mgの活性化及び脱水PEGを2mLシリンジ当りにパッケージングする。

【 0 1 4 9 】

次にその接着性フォームを実施例9に記載されるように調製する。

実施例 1 1：加熱コラーゲン及びアミンに対して反応性である活性化求電子基を有するポリエチレングリコール誘導体を組み合わせる接着性マトリックスからなる接着性フォーム

アルブミンを、10～20%の濃度で、pH6.5～9で、実施例1に記載されるように調製した加熱コラーゲンに置換し、5mLシリンジ当り2倍少い活性化脱水PEG、即ち20～250mgのPEGをパッケージングすることで実施例9を2回繰り返す。

【 0 1 5 0 】

実施例 1 2：加熱コラーゲン及びスルフヒドリルに対して反応性である活性化PEG誘導体を組み合わせる接着性マトリックスからなる接着性フォーム

アルブミンを、10～20%の濃度、pH6.5～9で実施例1に記載されるように調製した加熱コラーゲンで置換し、5mLシリンジ当り2倍少い活性化脱水PEG、即ち20～250mgのPEGをパッケージングすることで実施例10を繰り返す。

【 0 1 5 1 】

実施例 1 3：フィブリン接着剤及びアガロースゲルを用いて調製した接着性マトリックスからなる接着性フォーム

アガロースゲル（ビヒクル）の調製

アガロースを0.5～5%の最終濃度及び75℃～100℃で非発熱性脱塩水中の溶液にとり、次にこの溶液のpHを、10～20mMのホスフェートの最終濃度を作るように、濃リン酸緩衝液でpH7.5～9に調節する。この溶液2mLを5mL

シリンジ当りに移す。次にこの溶液を当業者に知られた条件下で凍結乾燥する。

【 0 1 5 2 】

別の変形例において、アガロースの溶液を、最終濃度 10 ～ 20 mMで、10 ～ 20 mMの pH 7.5 ～ 9 のホウ酸ナトリウム (b o r a x) で、又は 1 : 1、mol / mol のホウ酸ナトリウム及びホスフェートの混合物で緩衝した非発熱性脱塩水中に調製する。

凍結乾燥の後、プランジャーをアガロースを圧縮することなくシリンジに導入する。25 ～ 35 kGy の投与量でのガンマ照射により滅菌したこれらのシリンジを気密二重ラッピングにパッケージングする。

【 0 1 5 3 】

この方法の別の変形例は、上述のように pH を 7.5 ～ 9 に調節した後、熱い間、即ち溶液の粘度がろ過により滅菌するのに十分に低い間に、0.22 ～ 0.45 μ m の多孔度を有する膜を介してアガロースの溶液を滅菌的にろ過することである。この溶液は、次に、シリンジ当り 2 mL の割合で、5 mL シリンジに滅菌的に分配し、凍結乾燥する。凍結乾燥の後、プランジャーを、アガロースを圧縮することなくシリンジに導入する。そのシリンジは、気密二重ラッピングでパッケージングする。滅菌ろ過後に行う全ての作業は、当業者に知られた滅菌条件下で行う。

【 0 1 5 4 】

フィブリン接着剤 / アガロース接着フォームの調製

フィブリン接着剤を、最初に、即時に調製する。全ての市販のフィブリン接着剤が好適であり得る。それは、例えば、フィブリノーゲンを含む T I S S V C O L (登録商標) の溶液であってよい。即時に調製したフィブリン接着剤溶液 2 mL を 5 mL シリンジに移し、40 °C に加熱する。

【 0 1 5 5 】

次に、凍結乾燥したアガロースゲルのシリンジをフィブリン接着剤のシリンジにつなぐ。その2つの産物を、フィブリン接着剤を凍結乾燥したアガロースを含むシリンジに通過させ、そして次に均一なフォームが作られるまで、10 ～ 20 回、それらのプランジャーを前後に押すことにより、一方のシリンジからの内容

物を他方に移すことによりホモジナイズする。

【 0 1 5 6 】

フィブリン接着剤を調製した後、そのフォームは、フィブリノーゲンを完全にフィブリンに変換させる前に調製し、用いなければならない。

実施例 1.4 : フィブリン接着剤、アガロース及び抗生物質を用いて調製した接着性マトリックスからなる接着性フォーム

0.25 ~ 2.5 mg のバンコマイシン、グラム陽性細菌、特に *S t a p h y l o c o c c u s a u r e u s* 及び *S t a p h y l o c o c c u s e p i d e r m i d i s* に対して有効である抗生物質、血管手術における移植感染の 2 つの主要な剤を、アガロース溶液 2 mL に加えた後、それを凍結乾燥する。

【 0 1 5 7 】

この製剤は、血管吻合縫合を密閉するために用いる。

この例の 1 つの変形例は、他の抗生物質を単独で、又はいずれかの割合のその混合物を、バンコマイシンのかわりに含めることである。

【 国際調査報告 】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Inter: nsi Application No
PCT/FR 00/02088

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER IPC 7 A61L24/04 A61L15/42		
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
B. FIELDS SEARCHED Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) IPC 7 A61L C08J C09J A61F B32B A61K A61B		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched		
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used) EPO-Internal, WPI Data, PAJ, FSTA, INSPEC, COMPENDEX, BIOSIS		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	US 4 442 655 A (STROETMANN MICHAEL) 17 April 1984 (1984-04-17) column 2, line 54 - column 3, line 16 column 5, line 17 - line 36 column 10, line 45 - line 51 column 12, line 20 - line 34	1-3, 7, 8, 10, 14-21, 25, 31-39, 43-45, 53, 54
X	US 2 584 082 A (FOSTER D. SNELL INC.) 29 January 1952 (1952-01-29) column 1, line 29 - line 51 column 2, line 3 - line 14 column 3, line 25 - line 29 --- -/--	1-3, 15, 19-21, 32, 33, 44
<input checked="" type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of box C. <input checked="" type="checkbox"/> Patent family members are listed in annex.		
* Special categories of cited documents: *A* document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance *E* earlier document but published on or after the international filing date *L* document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) *O* document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means *P* document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed *T* later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention *X* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone *Y* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art. *Z* document member of the same patent family		
Date of the actual completion of the international search 28 November 2000		Date of mailing of the international search report 05/12/2000
Name and mailing address of the ISA European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Tr. 31 651 epo nl. Fax: (+31-70) 340-3016		Authorized officer Menidjel, R

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (July 1992)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Internat Application No
PCT/FR 00/02088

C. (Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	EP 0 747 420 A (ALBANY INT RESEARCH) 11 December 1996 (1996-12-11) page 2, line 57 -page 3, line 32 page 4, line 6 - line 22 page 4, line 53 -page 5, line 4	1-4, 7, 8, 10, 15, 17
X	CH 674 804 A (BATTELLE MEMORIAL INSTITUTE) 31 July 1990 (1990-07-31) abstract page 3, line 45 -page 4, line 5 claims 1-8	1-3, 19, 20, 32, 44
X	US 4 612 332 A (BOCK JAN ET AL) 16 September 1986 (1986-09-16) abstract column 2, line 9 - line 23 column 2, line 42 - line 68	1, 15, 16, 19, 32-37, 41-45
A	FR 2 754 268 A (DEV DES UTILISATIONS DU COLLAG) 10 April 1998 (1998-04-10) cited in the application page 6, line 1 -page 7, line 13 page 8, line 15 -page 9, line 31 page 14, line 14 - line 31 page 16, line 3 - line 11	1-14, 17-31, 40, 44-47, 53, 54
A	WO 98 02098 A (BAXTER INT) 22 January 1998 (1998-01-22) abstract page 5, line 4 -page 6, line 20 page 10, line 3 - line 30 figures 1-4	44-53

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No.

PCT/FR 00/02088

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
US 4442655 A	17-04-1984	EP 0068149 A	05-01-1983
		JP 61178927 A	11-08-1986
		AT 20824 T	15-08-1986
		AT 13810 T	15-07-1985
		DE 3171072 D	25-07-1985
		DE 3175003 D	28-08-1986
		EP 0068047 A	05-01-1983
		EP 0068048 A	05-01-1983
		JP 1018054 B	03-04-1989
		JP 58038216 A	05-03-1983
		JP 1018055 B	03-04-1989
		JP 58038217 A	05-03-1983
		JP 58036545 A	03-03-1983
		JP 61039824 B	05-09-1986
		US 4427650 A	24-01-1984
		US 4427651 A	24-01-1984
US 2584082 A	29-01-1952	NONE	
EP 0747420 A	11-12-1996	AU 708720 B	12-08-1999
		AU 3174195 A	19-12-1996
		BR 9505035 A	21-10-1997
		CA 2164253 A	08-12-1996
		CN 1137540 A	11-12-1996
		FI 953789 A	08-12-1996
		JP 8337674 A	24-12-1996
		NO 953115 A	09-12-1996
		US 5851461 A	22-12-1998
CH 674804 A	31-07-1990	NONE	
US 4612332 A	16-09-1986	NONE	
FR 2754268 A	10-04-1998	FR 2754267 A	10-04-1998
		AU 721494 B	06-07-2000
		AU 4626997 A	05-05-1998
		BR 9706817 A	23-03-1999
		CA 2236306 A	16-04-1998
		EP 0862468 A	09-09-1998
		WO 9815299 A	16-04-1998
		JP 2000503883 T	04-04-2000
WO 9802098 A	22-01-1998	AU 3720097 A	09-02-1998
		EP 0917444 A	26-05-1999

フロントページの続き

(51) Int. Cl. ⁷	識別記号	F I	タームコード ⁷ (参考)
A 6 1 L 31/00		A 6 1 P 41/00	
A 6 1 P 17/02		A 6 1 L 25/00	A
19/00			K
41/00		A 6 1 K 37/02	
(81) 指定国	EP (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE), OA (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG), AP (GH, GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZW), EA (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NO, NZ, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VN, YU, ZA, ZW		
(72) 発明者	グラバーニャ, フィリップ フランス国, エフ-69540 イリーニ, グ ランドウ リュ, 23		
(72) 発明者	ドゥボワ, ミシェル マリー フランス国, エフ-69110 ストゥ フォ イ レ リヨン, シュマン デュ シーニ ャル, 34		
F ターム (参考)	4C060 MM18 4C081 AA08 AA12 AA14 AC04 BA11 BA16 CD121 CD151 CD171 DA14 4C084 AA02 AA03 AA19 BA44 CA62 DA36 DA40 MA02 MA13 MA63 MA67 ZA891 ZA892 ZA941 ZA942 ZA961 ZA962		